

Rhizobium-törzsek teljesítőképességének (virulenciájának + effektivitásának) irányított fokozása

MANNINGER ERNŐ és MOLNÁR JOLÁN

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

A pillangósvirágúak vetőmagjának oltására használatos rhizobiumos oltóanyagot hatásos baktériumtörzsekből kell készíteni. Minél hatásosabbak a törzsek, illetve minél nagyobb a törzsek virulenciájának (gumóképzésének) és effektivitásának (nitrogénkötésének) együttes hatását kifejező teljesítőképessége, annál jobb eredmény várható az oltóanyagtól.

Célunk volt tehát olyan egyszerű módszer után kutatni, amellyel a baktériumtörzsek teljesítőképessége fokozható.

Anyag és módszer

Kísérletünket egy újonnan létesített konyhakertészet ágyasából termesztett borsónövényből izolált baktériumtörzsszel végeztük. Azért választottuk a borsót, mert ez a növény aránylag gyors növekedésével és megfelelő gyökérezetével célunknak leginkább megfelelt. Négyeszeres ismétlést alkalmaztunk. Az egyes sorozatok növényei átlag 11 hetesek.

Az öt perccig 1%-os szublimáttal sterilizált magvakat kiizzított homokot tartalmazó tenyészedényekbe vetettük. A növényeket szükség szerint steril vízzel öntöztük. A sziklevelek tápanyagának felhasználása után többször nitrogénmentes tápoldatot is kaptak a növények. E tápoldat összetétele a következő:

KCl	1 g	CaCl ₂	1 g
MgSO ₄	1 g	5%-os FeCl ₃	3–6 csepp
KH ₂ PO ₄	1 g	H ₂ O	700 ml

Több tenyészedénysorozatot állítottunk be, amelyeknek magvait különböző röntgen-egységekkel besugárzott, egyforma mennyiségű baktérium-szuszpenzióval oltottuk. A besugárzáshoz kétféle röntgencsővet használtunk: Philips „Metalix” és Machlett DTE–60 „Patent” típusút. Erre a célra 48 órán át 7,1 pH-jú babagaron nőtt tenyészeteket használtunk fel. Minden sorozathoz kezeletlen baktériummal oltott kontroll növények (az ábrákon K₀) és oltatlan kontroll növények (K) is kerültek.

A kísérleteinket közvetlenül virágzás előtt bontottuk le. A növények közül kiválasztottuk az átlagosan fejletteket és ezeket használtuk fel az ábrákon való bemutatáshoz. Az ezeken látható gyökérzet nem minden esetben ábrázolja a teljes gyökértömeget, mert minden elővigyázatosság ellenére az edényekből való kiemeléskor néha kisebb-nagyobb részek letöredeztek.

Eredmények és következtetések

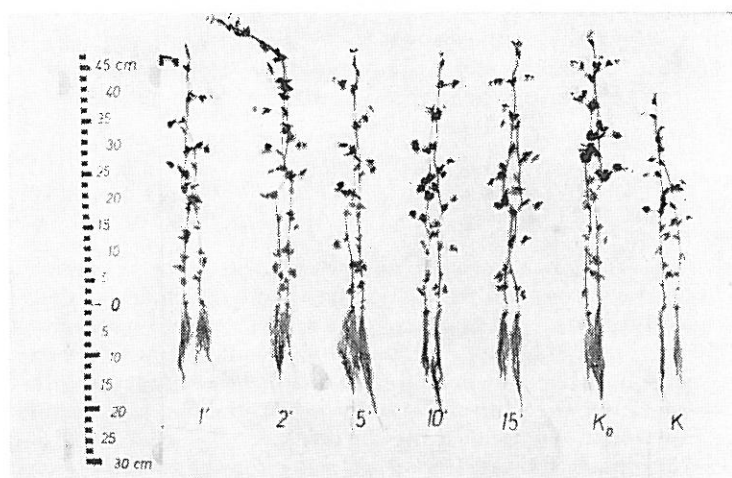
A rhizobiumok esetében a virulencia fogalmával a gumóképzést jelölik, tehát e szó itt mást jelent, mint a mikrobiológiában általában elfogadott értelmezés. Minthogy a rhizobiumoknál nem olyan fertőzésről van szó, amely az élő gazdaszervezetre káros (parazitizmus), hanem ellenkezőleg, hasznos együttélésről, ezért a virulencia kifejezés ilyen használata zavaró és indokolatlan. Ezzel ugyanis e szó eredeti definícióját megváltoztatva, ugyanazzal a szóval két különböző fogalmat jelölnénk. Kétértelmű kifejezés alkalmazása helyett ésszerűbbnek tartja MANNINGER [3] a „gumóképző”, míg az avirulens szó helyett a „gumót nem képező” kifejezés használatát.

E kérdés vizsgálata azért is bonyolult, mivel a gumóképzés fokozása valószínűleg csak bizonyos esetekben lehetséges, éppen úgy, amint a teljes, magas virulenciájú másfajú mikroorganizmusokat sem lehet magasabb virulenciára emelni (LOVREKOVICH [2]).

Mivel a gumóképzésre a környezeti tényezők nagy befolyással lehetnek, ezért kell ennek vizsgálatát meglehetősen meghatározott viszonyok között elvégezni.

A gumóképzés fokozása sikerült ugyan EHRENBURG-nek [1] azonban eljárása hosszadalmas, és körülményes, ezért nem alkalmazható az oltóanyaggyártáshoz használatos törzsek számára. Különböző is a gyakorlat szempontjából egyedül a gumóképzés fokozása nem lehet cél, hiszen ez a kis hatékonyságú törzsek esetében is lehetséges, vagyis a gumóképzés emelése nagyobb nitrogénkötés nélkül is fennálhat. E két tulajdonság eredőjeként létrejött teljesítőképességet (produktivitást) kell vizsgálni, amely kifejezést a magyar rhizobium szakirodalomban már több mint egy évtizede használják.

Egyszerű eljárásként fizikai ingerek hatását tettük vizsgálat tárgyává. Mint aránylag könnyen keresztülvihető módszert, a röntgen-sugárzást használ-



1. ábra

22–24 kV és 3 mA röntgensugarakkal besugárzott rhizobiumok hatása. K_0 = besugárzást nem kapott rhizobium törzs hatása. K = baktériummal nem oltott növények.

tuk fel a teljesítőképesség emelésének megkísérlésére, mert az irodalmi adatok szerint a röntgensugarak nem fejtenek ki különösebb káros hatást a baktériumokra.

A következőkben az egyes ábrákon és táblázatokban mutatjuk be a megadott áramerősség és feszültség mellett kapott eredményeket.

Az 1. ábrán 22–24 kV és 3 mA-rel besugárzott baktériumtenyészet hatása látható. A legjobb eredményt a 2 perces besugárzás adta. Ugyanezek a növények mutatták a sorozatban a legjobb gumóképzést.

1. táblázat

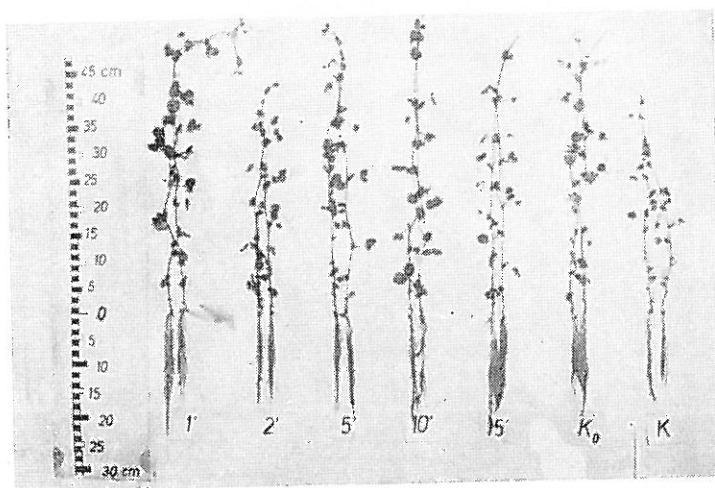
Különböző feszültséggel és intenzitással végzett besugárzások üzemi adatai

kV/mA	(1) A besugárzás ideje percekben				
	1	2	5	10	15
22–24/3	8	16	40	80	120
28–30/3	16	31	78	155	233
50/3	40	80	200	400	600
32–34/6	27	55	138	274	412
50/6	79	158	395	790	1185
28–30/10	30	60	150	299	449

A táblázat számai röntgenegységeket jelentenek.

A 2. ábra növényeit 28–30 kV és 3 mA-es kezelésű baktériumokkal oltottuk. Itt az 1 perces besugárzás mutatta az optimumot.

Az 50 kV és 3 mA-rel végzett kísérlet a 2 perces besugárzásnál eredményezett szembetűnő hatást (3. ábra).

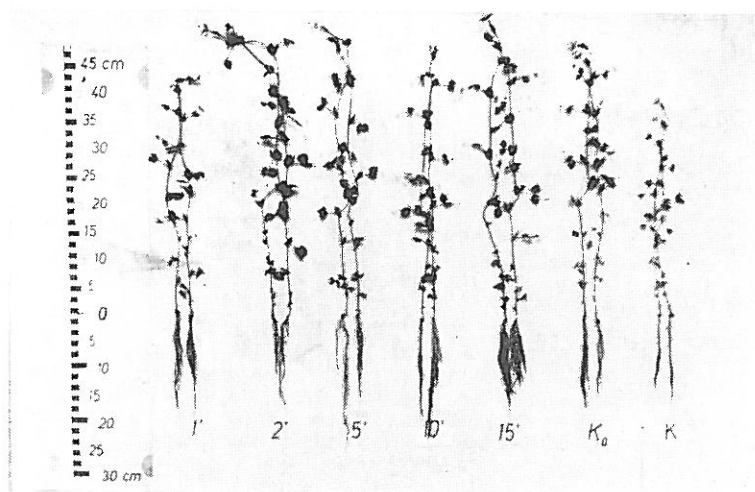


2. ábra

28–30 kV és 3 mA röntgensugarakkal besugárzott rhizobiumok hatása. Jelzéseket lásd 1. ábra.

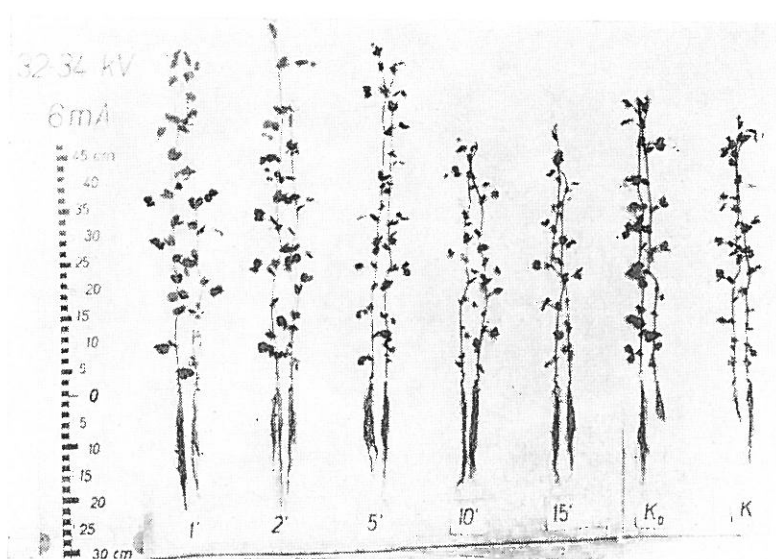
A 4. ábra a 32–34 kV és 6 mA sugárzás eredményességét szemlélteti, amelynél az 1 perc besugárzást kapott tenyészettel oltott növények jól növekedtek.

Ezeknél nagyobb üzemi adatokkal (1. táblázat) végzett kísérletek nem eredményeztek pozitív hatást, ezért ezeket nem mutatjuk be ábrákon. A külön-



3. ábra

50 kV és 3 mA röntgensugarakkal besugárzott rhizobiumok hatása. Jelzéseket lásd 1. ábra



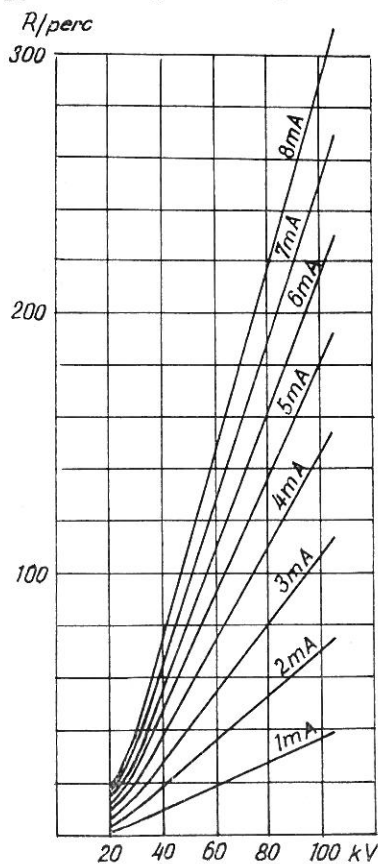
4. ábra

32–34 kV és 6 mA röntgensugarakkal besugárzott rhizobiumok hatása. Jelzéseket lásd 1. ábra.

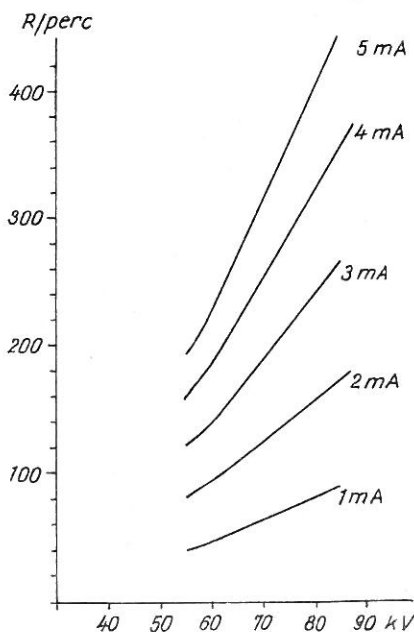
böző áramerősségek és feszültségek kombinációját és a hozzájuk tartozó röntgenegységeket az 1. táblázatban adtuk meg.

A röntgen csövek műszerrel mért percenkénti röntgenegységeit, mint teljesítmény-grafikonokat az 5. és 6. ábrákon rajzoltuk meg.

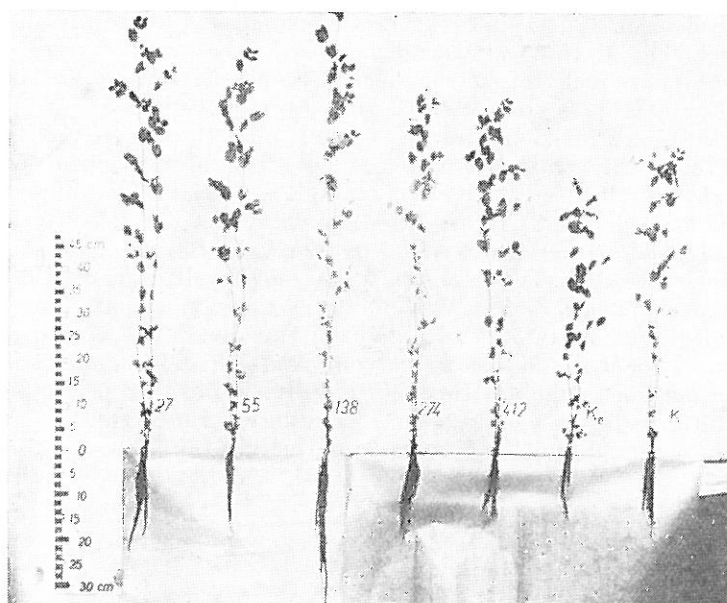
Ezekről a megfelelő mA és kV adagok mellett a percenkénti röntgenegység közvetlenül leolvasható. E röntgenegységek adatait mutatják az egyes sorozatok ábráin feltüntetett abszolút számok is. A számítás módjára a következő példát közöljük: a 8. ábrán látható növényeket olyan baktérium-szuszenzióval oltottuk, amelyeknek a besugárzását a Philips „Metalix” típusú röntgenesővel végeztük. A legjobban fejlett növény baktériumai 80 röntgenegységet kaptak 50 kV és 3 mA üzemeltetés mellett. Ha az ábra vízszintes tengelyén megkeressük az 50 kV-nál képzelt függőleges és a 3 mA görbe metszéspontját, akkor a függőleges tengelyen láthatjuk, hogy ennek 40 röntgenegység felel meg percenként. Minthogy e baktériumokat 2 percig sugároztuk be, ezért 80 röntgenegységgel kezeltük. Ugyanígy számítottuk ki a grafikonok alapján a besugárzás idejét a sorozatok bármelyik tagjára.



5. ábra
Philips „Metalix” röntgeneső teljesítmény-
grafikonja (15 cm fókusztávolság)



6. ábra
Machlett DTE-60 „Patent” röntgeneső
teljesítménygrafikonja (15 cm fókusztávolság).



7. ábra

A 2. táblázat adatai szerint besugárzott rhizobiumok hatása. Jelzéseket lásd 1. ábra.

A 2. és 3. táblázatban a 7. és 8. ábrákban közölt sorozatok üzemi adatait adjuk meg. Ezek alapján kitűnik, hogy az előző sorozatok eredményével összhangban most is kb. 150 röntgenegységig mutatkozik a pozitív hatás.

Az irodalomban még nincs eldöntve, hogy a röntgenhatást a feszültségre, és az áramerősségre való tekintet nélkül a röntgenegységek száma idézi-e elő, vagy a röntgenegységek abszolút száma mellett a feszültségnek és az áram-

2. táblázat

Az oltásra felhasznált baktériumok kezelésére alkalmazott röntgen sugárzás technikai adatai (7. ábra növényei). Besugárzás Manchlett DTE—60 „Patent” csővel, 15 cm fókusztávolságról

(1) A 7. ábra növényei balról jobbra	kV	mA	(2) Besugárzás időtartama	(3) Besugárzás alatt kapott röntgen- egységek
1.	60	2	17''	27
2.	60	2	34''	55
3.	70	2	69''	138
4.	70	2	137''	274
5.	70	2	206''	412
K ₀	Kezeletlen baktériumokkal oltott kontroll			
K	Oltatlan kontroll			

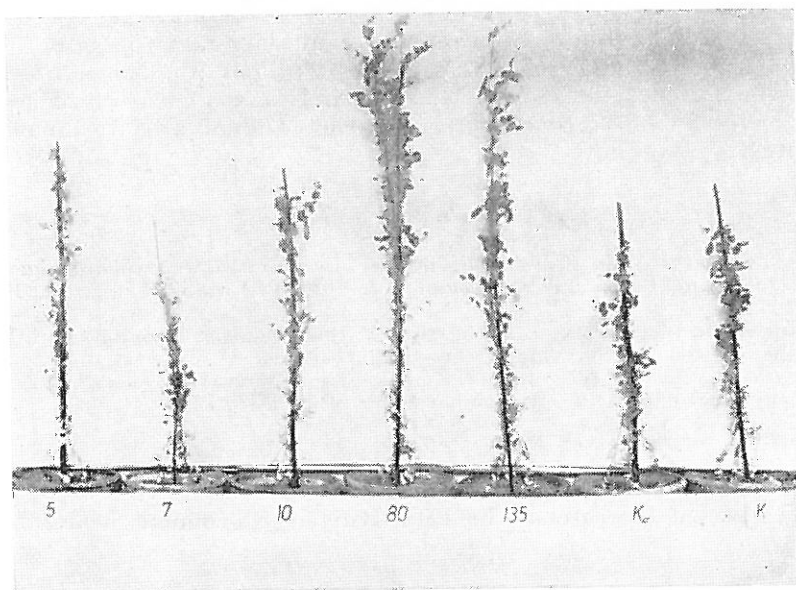
3. táblázat

Az oltásra felhasznált baktériumok kezelésére alkalmazott röntgen sugárzás technikai adatai (8. ábra növényei). Besugárzás Philips „Metalix” csővel 15 cm fókusztávolságról

(1) A 8. ábra növényei balról jobbra	kV	mA	(2) Besugárzás időtartama	(3) Besugárzás alatt kapott röntgen- egységek
1.	70	1	15''	5
2.	50	3	10''	7
3.	50	3	15''	10
4.	50	3	120''	80
5.	70	2	180''	135
K ₀	Kezeletlen baktériumokkal oltott kontroll			
K	Oltatlan kontroll			

erősségnek is van-e bizonyos speciális hatása. Ezért helyesnek tartottuk, hogy a röntgenegységek adagolásánál az alkalmazott feszültséget és áramerősséget is figyelembe vegyük

Ha a vizsgálataink egyes sorozatainak legjobban fejlett növényeit, és a hozzájuk tartozó röntgenegységeket tüzetesen vizsgáljuk, azt tapasztaljuk, hogy a kb. azonos röntgenegységekkel kezelt baktériumok nem fejtenek ki



8. ábra

A 3. táblázat adatai szerint besugárzott rhizobiumok hatása. Jelzéseket lásd 1. ábra.

azonos hatást a különböző kV és mA-ek mellett. Ebből arra következtethetünk, hogy a megfelelő röntgenegységek csak bizonyos feszültség és intenzitás mellett tudnak a baktériumokra kedvező hatást gyakorolni. Azt tapasztaltuk, hogy a legkedvezőbb hatást adta az 50 kV 3 mA mellett kb. 80 röntgenegységig, illetőleg a 70 kV 2 mA-el kb. 140 röntgenegységig. Eddigi kutatásaink alapján azt a megfigyelést tettük, hogy az alkalmazott alacsonyabb feszültség felhasználásával előállított sugáradagoknak viszonylag alacsonyabb értékei fejtettek ki már stimuláló hatást a viszonylag magasabb feszültség értékeivel szemben. Sajnos az előbb felvetett vonatkozásban biztos adatok nem állnak rendelkezésünkre és általában a röntgenadagok összességét veszik döntő tényezőnek e tekintetben. Nézetünk szerint az alacsonyabb feszültség és áramerősség mellett kirepülő quantumok kisebb átütő hatással rendelkeznek, és így nyilván könnyebben is abszorbeálódnak. Nem lehetetlen, hogy ezzel a jelenséggel függ össze az a körülmény, hogy az alacsonyabb feszültséggel előállított röntgenegységekkel értünk el stimuláló hatást, mert ezek nyilván nem gyakoroltak a plazmára olyan roncsoló hatást, mint amelyet a nagy quantumú, nagyobb feszültségű, keményebb sugaraktól várni lehet.

Összefoglalás

Célunk volt olyan egyszerű módszer után kutatni, amellyel a rhizobium törzsek teljesítőképessége fokozható.

Borsóból izolált baktériumtörzset különböző feszültségű és intenzitású röntgensugarakkal kezeltünk, majd a növényeken vizsgáltuk teljesítőképességét. A sugárzás hatására valószínűleg a törzsen belül mutáció folytán olyan vonalak képződtek, amelyeknek megváltozott a tulajdonsága.

Vizsgálatainkból megállapítható, hogy általában kis röntgenegységekkel értünk el stimuláló hatást. Azt is tapasztaltuk, hogy kb. azonos röntgenegységek nem fejtenek ki azonos hatást, vagyis a megfelelő röntgenegységek csak bizonyos feszültség és áramerősség mellett tudnak a baktériumokra kedvező hatást gyakorolni.

Irodalom

- [1] EHRENBURG, P.: Neue Feststellungen über die sogenannte Virulenzsteigerung der Knöllchenbakterien unserer Leguminosen. Z. PflErnähr. Düng, **5.A** 104—106. 1925.
- [2] LOVREKOVICH, I., TOMCSIK, J. & LŐRINCZ, F.: Bakteriologia, Immunitástan, Parazitologia. M. Orvosi Könyvkiadó Társ. Budapest. 1935.
- [3] MANNINGER, E.: Rhizobium-baktériumok. In: KERESZTESI, B.: Akátermesztés Magyarországon. S. fej. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1965.

Érkezett: 1968. szeptember 18.

Directed Increase of the Effectivity of Rhizobium Strains

E. MANNINGER and J. MOLNÁR

Research Institute of Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

Summary

The rhizobium inoculum used for the inoculation of legume seeds has to be prepared from effective bacteria strains. The greater the effectivity of these strains is, that is, in the case of greater intensity of nodule formation (virulence) and nitrogen fixation (effectivity), the better expected results may be (after inoculation) in practice.

Our aim was to find a simple method by which the effectivity of these strains may be increased. For this purpose rhizobium strains, isolated from pea nodules, were treated with X-rays of various potential and intensity and then their effectivity was studied on pea plants after seed inoculation. The results obtained in the cases of various intensity and potential of current are shown in the respective figures and tables.

If the best developed plants and connected X-rays are taken into consideration it appears that the bacteria, which had the same X-ray units, do not produce identical effects in the case of various kV-s and mA-s. It can be concluded from this, that the favourable effect of the appropriate X-rays units on the bacteria is influenced by the potential and intensity.

It was also established that the X-rays doses of low technical data were stimulating in contrast with the relatively high values. According to the authors, the quanta released at lower technical data have a smaller penetrating effect and probably are absorbed more easily. Moreover in this way, perhaps they do not exercise such a destructive effect on the plasma as the big quantum, higher potential, hard rays.

Figure 1. The effect of rhizobia irradiated with 22—24 kV and 3 mA X-rays. K_0 = the effect of the rhizobium strains which were not irradiated with X-rays. K = uninoculated plants.

Figure 2. The effect of rhizobia irradiated with 28—30 kV and 3 mA X-rays. Markings: see Figure 1.

Figure 3. The effect of rhizobia irradiated with 50 kV and 3 mA X-rays; markings: see Figure 1.

Figure 4. The effect of rhizobia irradiated with 32–34 kV and 6 mA X-rays. Markings: see Figure 1.

Figure 5. The efficiency diagram of the Philips "Metalix" X-ray tube (15 cm focal distance).

Figure 6. The efficiency diagram of the Manchlett DTE-60 "Patent" X-ray tube (15 cm focal distance).

Figure 7. The effect of rhizobia irradiated according to the data of Table 2. Markings: see Figure 1.

Figure 8. The effect of rhizobia irradiated according to the data of Table 3. Markings: see Figure 1.

Table 1. Technical data of the X-ray exposure carried out with different potential and intensity. X-ray exposure time in minutes. The numbers of the table are X-ray units.

Table 2. Technical data of the X-ray exposure with which the bacteria used in the inoculation of the plant were treated shown in Figure 7. (X-ray exposure with Manchlett DTE-60 tube from 15 cm focal distance.) (1) The members of the series from left to right. (2) X-ray exposure in a space of time. (3) The X-ray units received during the exposure. K_0 = Control; inoculated untreated bacteria. K = uninoculated control.

Table 3. Technical data of the X-ray exposure with which the bacteria used in the inoculation of the plant were treated, shown in Figure 8. Exposure with Philips "Metalix tube" from 15 cm focal distance. Markings: see Table 2.

Die Leistungsfähigkeit-Steigerung der Rhizobien-Stämme

E. MANNINGER und J. MOLNÁR

Forschungsinstitut für Bodenkunde und Agrikulturchemie der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, Budapest

Zusammenfassung

Zur Herstellung von Bakterienimpfstoffen der Leguminosen müssen wirksame Bakterienstämme verwendet werden. Je wirksamer die Stämme sind, also je intensiver die Knöllchenbildung (Virulenz) und die Stickstoffbindung (Effektivität), d. h. die Leistungsfähigkeit dieser ist, desto grösseren Effekt können wir in der Praxis erwarten.

Unser Ziel war so eine einfache Methode zu entwickeln, welche die Steigerung der Leistungsfähigkeit der Rhizobien-Stämme ermöglicht. Der aus Erbsen-Wurzelknöllchen isolierte Rhizobien-Stamm wurde den Röntgenstrahlen von verschiedenen Spannungen und Intensitäten ausgesetzt, danach die Leistungsfähigkeit an Erbsenpflanzen geprüft.

Die Ergebnisse bei verschiedenen Spannungen und Intensitäten sind in den Abbildungen und in den Tabellen dargestellt. Wenn wir die Röntgendosen und die am besten entwickelten Pflanzen miteinander vergleichen, so können wir feststellen, dass die mit ungefähr gleichen Dosen, aber bei verschiedenen kV und mA bestrahlten Bakterien keine gleiche Resultate aufweisen. Daraus geht hervor, dass die Röntgendosen nur bei gewissen Spannungen und Intensitäten einen positiven Einfluss auf die Bakterien ausüben können.

Stimulierenden Effekt wiesen die bei niedrigeren Werten induzierten Röntgendosen auf, dagegen zeigten die hohen Röntgendosen keinen Effekt. Unserer Ansicht nach sind die bei kleineren Spannungen und Intensitäten ausgeschleuderten Quanten leichter absorbierbar, bzw. weisen solche weniger zerstörende Eigenschaften in der Plasma auf, als die härteren Strahlen mit grösseren Intensitäten.

Tabelle 1. Betriebsdaten der Bestrahlungen von verschiedenen Spannungen und Intensitäten. (1) Bestrahlungsdauer in Minuten. Die Zahlen bedeuten Röntgeneinheiten.

Tabelle 2. Technische Daten der bei der Impfung verwendeten Strahlen (Pflanzen s. Abb. 7.). Bestrahlung mit Röntgenröhre Manchlett DTE-60 "Patent" Brennweite: 15 cm. (1) Pflanzen von Abb. 7. von links nach rechts. (2) Zeitdauer der Bestrahlung. (3) Röntgeneinheiten. K_0 = mit nicht bestrahlten Bakterien beimpfte Kontrolle. K = unbeimpfte Kontrolle.

Tabelle 3. Technische Daten der bei Impfung verwendeten Strahlen (Pflanzen s. Abb. 8.). Bestrahlung mit Röntgenröhre Philips "Metalix" Brennweite: 15 cm. Bezeichnungen s. Tabelle 2.

Повышение степени продуктивности штаммов клубеньковых бактерий

Э. МАННИНГЕР и Ё. МОЛНАР

Научно-исследовательский институт почвоведения и агрохимии А. Н. Венгрии, Будапешт

Резюме

Инокуляционный материал клубеньковых бактерий, применяемый для инокуляции посевных семян бобовых растений, должен готовиться из эффективных бактериальных штаммов. Чем эффективнее штаммы, то есть чем интенсивнее они образуют клубеньки (вируленция) и связывают азот (эффективность), тем лучше их практические результаты.

Нашей целью являлось изучение такого простого метода, который мог бы повысить степень эффективности бактериальных штаммов. Для этого, выделенные из растений гороха штаммы клубеньковых бактерий, облучали рентгеновскими лучами, получаемыми при различном напряжении и силы тока, затем изучали эффективность этих штаммов на растениях гороха.

Результаты, полученные при различных напряжениях и силах тока, приводятся в отдельных таблицах и рисунках.

При исследовании самых развитых растений и относящихся к ним рентгеновских единиц можно сказать, что бактерии, получившие приблизительно одинаковое количество рентгеновских лучей не оказывают одинакового влияния при различных к V и mA. Из этого следует, что одинаковые единицы рентгена только при определенном напряжении и интенсивности могут оказывать благоприятное влияние.

Было отмечено, что дозы облучения, полученные при использовании низких технических показателей, вызвали стимулирующее влияние в противоположность относительно высоким показателям. По нашему мнению, кванты, вылетающие при небольших технических показателях, обладают меньшей пробивающей способностью и таким образом, по всей вероятности, легче адсорбируются и вероятно не оказывают на плазму такого разрушающего влияния, как большие кванты высокого напряжения, более жесткие лучи.

Табл. 1. Технические показатели облучений, проведенных с различным напряжением и интенсивностью. (1) Время облучения в мин. Цифры таблиц обозначают дозы рентгена.

Табл. 2. Технические показатели при облучении растений, приводимых на рис. 7. (Облучение проводилось трубкой Mancellett DTE-60 „Patent” (при фокусном расстоянии в 15 см.) (1) Составные серий слева направо. (2) Время облучения. (3) Количество единиц рентгена, полученное за время облучения. K_0 = контроль, инокулированный бактериями. K = растения без инокуляции.

Табл. 3. Технические показатели при облучении растений, приведенных на рисунке 8. Облучение проводилось трубкой „Metalix”, при фокусном расстоянии в 15 см. Обозначение смотри в таблице № 2.

Рис. 1. Влияние клубеньковых бактерий, облученных рентгеном при 22—24 kV и 3 mA. K_0 = влияние необлученных штаммов клубеньковых бактерий. K = растения без инокуляции.

Рис. 2. Влияние штаммов клубеньковых бактерий, облученных рентгеновскими лучами при 28—30 kV и 3 mA. Обозначения смотри на рисунке 1.

Рис. 3. Влияние штаммов клубеньковых бактерий, облученных рентгеновскими лучами при 50 kV и 3 mA. Обозначения смотри на рисунке 1.

Рис. 4. Влияние штаммов клубеньковых бактерий, облученных рентгеновскими лучами при 32—34 kV и 6 mA. Обозначения смотри на рисунке 1.

Рис. 5. График мощности рентгеновской трубки Philips „Metalix” (при фокусном расстоянии в 15 см).

Рис. 6. График мощности рентгеновской трубки Machlett DTE-60 „Patent” в (при фокусном расстоянии в 15 см).

Рис. 7. Влияние штаммов клубеньковых бактерий, облученных согласно данным, приводимым в таблице 2. Обозначения смотри на рис. 1.

Рис. 8. Влияние штаммов клубеньковых бактерий, облученных согласно данным, приводимым в таблице 3. Обозначения смотри на рисунке 1.